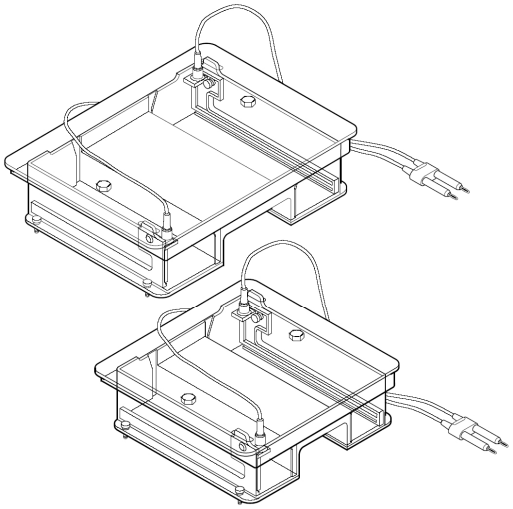
＜サブセル 96/192 シリーズ＞

取扱説明書



＜170-4500 to 170-4511＞

ご使用の前に

本製品を正しく安全にお使いいただくために、ご使用の前に必ずこの取扱説明書を十分にお読みください。お読みになったあとは、いつでも見られるところに必ず保管してください。

BIO-RAD

安全にお使いいただくために

―――――――――――――――――――――――――――――――――――――――

使用上のご注意	この製品の使用上、誤った操作を行った場合、人体への危害、財産への損害を生じることがあります。ご使用にあたっては、日本語取扱説明書、英文取扱説明書、下記注意事項を良く読み、十分注意を払ってご使用ください。
具体的な注意事項	● 転倒の無い、安定した場所でご使用ください。 ● 燃えやすい物の近くに置かないでください。 ● 壁からは数 cm 離して設置してください。 ● バッファー等、液体が装置にかからないようにしてください。 ● 実験中はそのそばを離れないでください。離れる場合は、十分安全であることを確認してください。 ● 濡れた手で触らないでください。 ● ほこり等の少ない場所でご使用ください。
製品の使用条件	● 温度:4 度 ～40 度 ● 湿度:80 %以下(4～31 度)、50%以下(32～40 度) ● 電源: 単相 100VAC 50/60Hz 電源を使用し、漏電が無いことを確認してください。 ● 非医療用具: 本製品は研究用の機器であり、医療用・医療診断用ではありません。

注意記号についての説明

	特定しない一般的な注意、警告、危険の通告を意味します。
	特定の条件において、感電の可能性に対し注意を促がす場合を意味します。

重要事項

――

この装置は、実験室用機器であり、医療用･医療診断用ではありません。

実験室用装置を対象としたクラス A の電磁放射規格に適合しています。この装置の近くや、同じ回路内で他の装置を使用した場合、この装置から放出される電磁波が他の敏感な装置に干渉する可能性があります。使用する場合はこの点に注意し、干渉を避けるための適切な措置を講じてください。

この装置は EN61010（注2）安全規格に適合することが証明されています。この規格に適合した製品は、取扱説明書に従って使用すれば安全であることが保証されています。装置に対する安全証明は、接続される装置やEN61010 に適合していない他の装置には適用されません。

この装置には、いかなる改造や変更も行わないでください。改造や変更を行った場合は保証が適用されず、EN61010 による証明も無効となります。また、使用者の安全が保障できなくなる恐れがあります。

本来意図された目的以外にこの装置を使用した場合、あるいはバイオ･ラッドまたは認定代理業者以外で改造や変更を行った場合、バイオ･ラッドはこれらの行為によって生じた怪我や損害には責任を負いません。

（注2）EN61010 は、実験装置用として世界的に認められた安全規格です。

保証規定

――

本体機器及びそのアクセサリーは、製品の材料あるいは製造に由来する欠陥については一年間保証致します。保証期間中に本体あるいはアクセサリーに欠陥が発見された場合、弊社では、欠陥のある部品の修理あるいは交換を無料にて行います。

但し、下記の場合は除外致します。

1. 適切でない使用方法による故障
2. 弊社あるいは弊社が認定した担当者以外が、修理あるいは改造を行った場合
3. 指定以外の部品を使用した為に起きた故障
4. 弊社以外から供給されたフィッティングあるいは部品を使用した場合
5. 事故あるいは間違った使用方法によって生じた故障
6. 天災による故障
7. 不適切な溶媒（注1）あるいはサンプルによって生じた腐蝕

（注1）不適切な溶媒に関しては、本取扱説明書をご参照ください。

保証期間については添付の製品保証シールに記載があります。保証期間シールは製品に添付し保管して下さい。保証期間内であっても、再度の納品検収、移動設置、製品点検については有償となります。保証期間外でも修理によって機能が維持できる場合には有償にて修理をうけたまわります。

運搬者、作業者の安全を確保するため、安全性チェックシートおよび確認書をご提出下さい。また、ご依頼者にて、清掃（毒劇物の除去、バイオハザードマテリアルの除去）を行っていない場合、修理製品を受理できないことがあります。
修理の依頼あるいはお問い合わせは、機器のモデル名とシリアルナンバーを添えてお近くの弊社営業所、あるいは弊社代理店までお願いいたします。

お客さま登録カード

――

製品購入時に添付されている「お客様登録カード」にご記入頂き、当社まで発送いただきますと、製品ごとのお客様として登録されます。製品に関連する情報など確実にお届けさせていただきますので、是非ご登録ください。

目次

第1章　ご使用にあたって
1-1. はじめに
1-2. 安全にご使用いただくために
1-3. システム構成
1-4.仕様

第2章　組み立てと基本操作
2-1. DNA ゲルの調製
2-2. コームのセットアップ
2-3. アガロースゲルの作製
2-4. バッファー循環ポートについて
2-5. 電気泳動
2-6. 核酸の染色と検出

第3章　ゲルと電気泳動試薬の準備
3-1. 泳動バッファーの調製
3-2. DNA と RNA ゲルの調製
3-3. RNA サンプルの調製
3-4. DNA･RNA サンプルローディングダイの調製
3-5. ゲル染色溶液の調製（エチジウムブロマイド溶液）

第4章　アフターケアについて
4-1. サブセルシステムの洗浄
4-2. 洗浄に用いる薬剤について
4-3. 電極の交換
4-4. RNase 処理

第5章　トラブルシューティング

第6章　プロダクトインフォメーション
6-1. サブセルモデル 96、モデル 192 システム

1. ご使用にあたって

1-1. はじめに

サブセルシステムは、アガロースゲルを用いて核酸を分離する最も簡便で用途の広いサブマリン電気泳動装置です。アガロースゲルを用いた電気泳動は、制限酵素処理されたDNA や PCR 増幅フラグメント、そしてサザン・ノーザンブロッティング前のゲノム DNA や RNA の分離に最適な方法です。適切な方法で行なうことによって、20 bp ～200 Kbp の長さの核酸をきれいに分離することができます。

サブセルモデル 96 と 192 電気泳動システムは特に複合的なサンプルの解析できるようにデザインされています。装置の横幅と専用のコームは、標準のマイクロプレートからサンプルを移すマルチチャンネルピペットの幅に合うようにで設計されています。48 検体（プラス 3 つの DNA サイズスタンダード）は 51 ウェルコームを用いて 1 列で泳動することができます。2 つのコームを用いれば、モデル 96 ではマイクロプレートの 96 検体分を全て泳動することもできます。モデル 192 では、4 つかそれ以上のコームを用いることによって、より多くの検体を泳動することができます。モデル 96 は長さ 10 、15cm のゲルを使用できます。モデル 192 は長さ 10、15、20、25cm のゲルを使用できます。モデル 96、モデル 192 は、多検体の泳動の他にサザンブロッティング用の Genomic DNA の分離を目的としても使用できます。

サブセルモデル 96 と 192 システムは電極交換が可能に行なえ、長期間の使用ができるようにデザインされています。このシステムはシンプルかつ正確に泳動及びアガロースゲルの作製ができます。また、マルチチャンネルピペットにも対応しているコームもオプションとしてご用意しています。循環用ポートを用いてバッファーを循環させることによって、電気泳動や高電圧によって起こる熱の発生や pH への影響を抑えることができます。

1-2. 安全にご使用いただくために

サブセルシステムをご使用になる場合は、電気泳動用のパワーサプライをご使用ください。パワーサプライは必ずアースを取ってご使用ください。バイオ・ラッド製のパワーサプライは種々の安全設計が施されておりますので安心してご使用いただけます。サブセルモデル 96 とモデル 192 システムのご使用にあたっては、下記の操作条件を超えない範囲で行なってください。

最大電圧	200 VDC
最大電力	70 Watts
最大バッファー温度	50°C
使用温度範囲	4°C～40°C

装置のフタは安全設計になっています。フタを外すと電流は流れないようになっていますが、事故防止のため装置を取り扱う際は必ずパワーサプライの電源を切ってください。

重要: 本製品は、理化学機器の国際安全基準 IEC 1010-1 に適合した製品です。本取扱説明書に従って使用する場合には安全にお使いいただけます。製品を改造等してご使用にならないでください。

改造した場合は:

- 保証外となります
- IEC 1010-1 適合外となります
- 安全性が損なわれることがあります

定められた使用目的以外に使用したり、バイオ･ラッド以外の者による改造を行った場合に生じたケガやトラブルについてはバイオ･ラッドは責任を負いかねます。

1-3. システム構成

サブセルモデル 96 およびモデル 192 の構成表は次のようになります。

アイテム	個数
ベース (泳動槽)	1
ゲルキャスティングゲート	2
セーフティリッド and ケーブル	1
UVTP ゲルトレー	1
コーム (51 ウェル、1.5mm 厚)	1
コームホルダー	1
水平計	1
ゲルキャスター (オプション)	1
取扱説明書	1

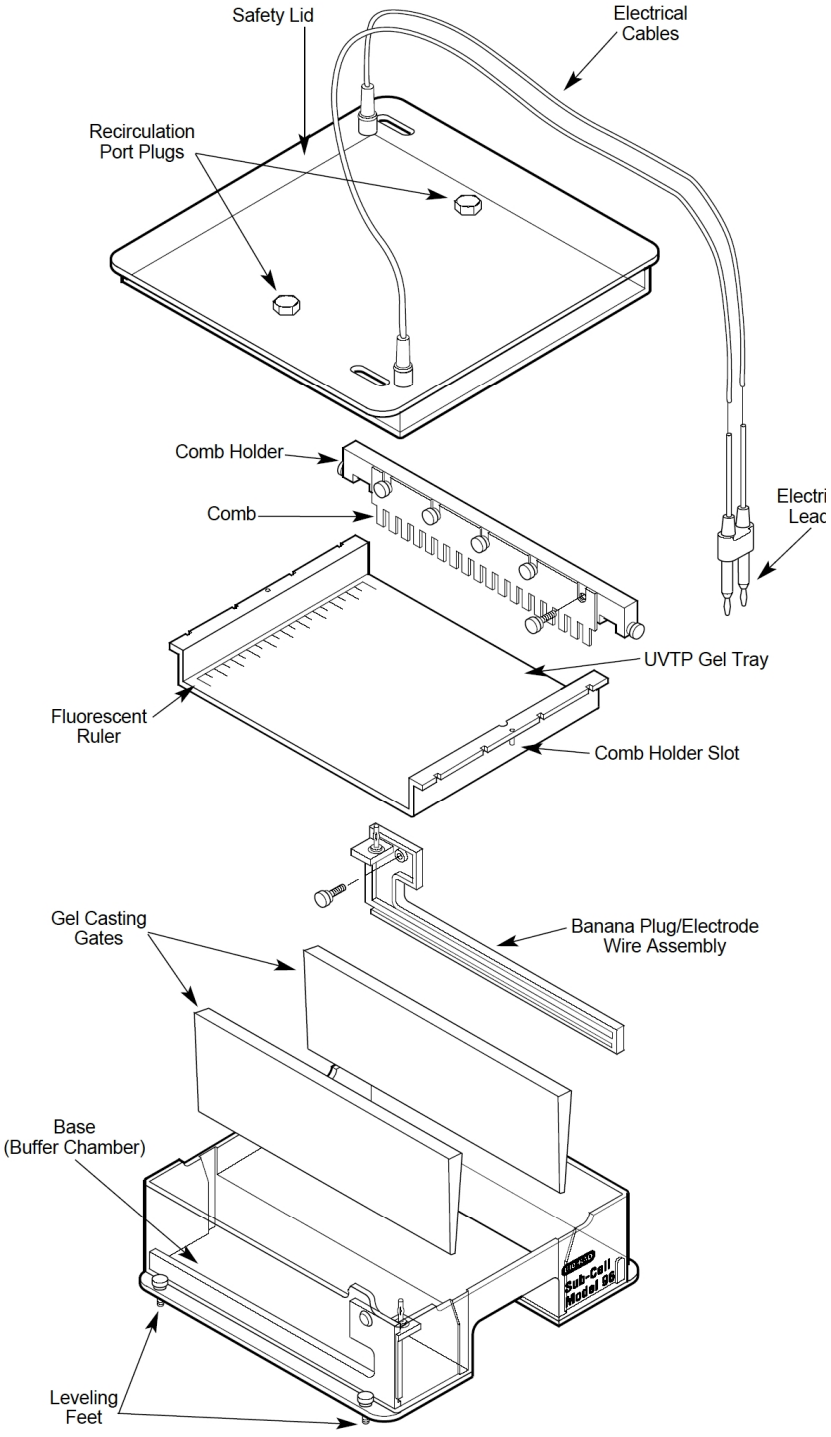


図 1-1. サブセル モデル 96 とモデル 192 のパーツ

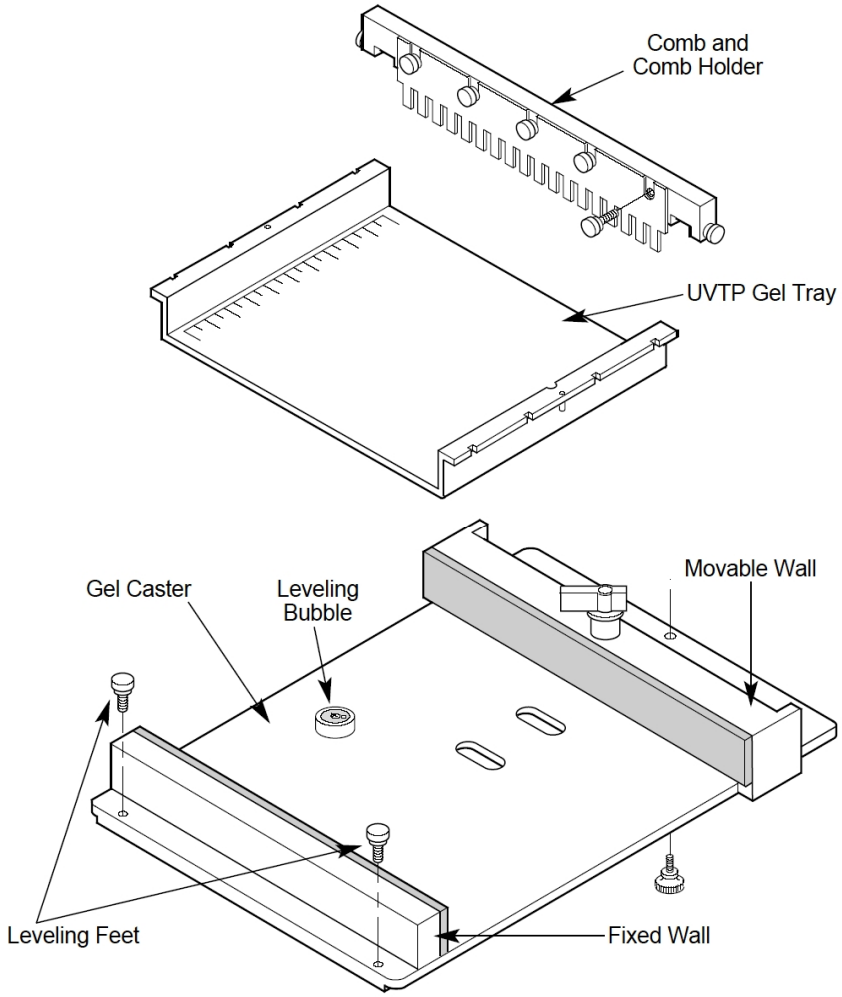


図 1-2. サブセル モデル 96 とモデル 192 のゲルキャスターのパーツ

1-4 仕様

サブセルモデル 96

ベースの寸法 (W×D×H)	29.0cm×29.5cm×9.0cm
ベースのバッファー容量	2.0L
ベースのゲルサイズ	25×10cm
ゲルトレーのサイズ	25×10cm 25×15cm

サブセルモデル 192

ベースの寸法 (W×D×H)	29.0cm×39.5cm×9.0cm
ベースのバッファー容量	3.0L
ベースのゲルサイズ	25×15cm
ゲルトレーのサイズ	25×10cm 25×15cm 25×20cm 25×25cm

その他の仕様

ベース	成形アクリル
ゲルキャスティングゲート	陽極酸化アルミニウム
安全フタ	成形アクリル
バナナプラグ/電極カセット	ポリカーボネート
バナナプラグ	金メッキ、長さ 4.4 cm
電極	0.25mm 径 白金線
リード線	ニッケル銀
ゲルトレー	UV 透過アクリルプラスチック (UVTP)
コーム	アクリル
コームホルダー	ポリカーボネート
ゲルキャスティングディバイス	ポリカーボネート、0.64cm シリコン

2. 組み立てと基本操作

注意： RNA の電気泳動法については 3 章を参照してください。

2-1. DNA ゲルの調製

DNA アガロースゲルは、様々なサイズの DNA を分離することができます。アガロースゲルを作製する前に、分離する DNA の範囲に適したアガロースゲルの濃度（%）を決めてください。（表 2.1 を参照）

手順

1. 表 2.1 と 2.2 を用いてゲルの容量と濃度（%）を確認してください。

例えば、1%アガロースゲルの場合、1×泳動バッファー 100ml に対し、アガロース 1g 加えます。

表 2.1 アガロース濃度と DNA の分離可能範囲

ゲル濃度	DNA サイズ（Kbp）
0.50	1 - 30
0.75	0.8 - 12
1.00	0.5 - 10
1.25	0.4 - 7
1.50	0.2 - 3
2 – 5*	0.01 – 0.5

* Bio-Rad 社 AmpliSize agarose を使用した場合

表 2.2 ゲル容量

ゲルのサイズ	0.5cm 厚	07.5cm 厚	1.0cm 厚
ベース			
25×10cm（モデル 96）	125ml	185ml	250ml
25×15cm（モデ 192）	185ml	280ml	375ml
トレー			
25×10cm	125ml	185ml	250ml
25×15cm	185ml	280ml	375ml
25×20cm	250ml	375ml	500ml
25×25cm	310ml	465ml	625ml

2. 適当な容器（例えば、250ml の三角フラスコやボトルなど）にアガロースを移します。次に 1×泳動バッファーを加え、渦を巻くように容器を振って適度に混ぜます。使用するフラスコはなるべく大きな容量のものを用いてください。（ ⚠ ゲルを加温して溶解する際に噴出してしまう場合があります）

注意：アガロース、泳動バッファーを加えた後、容器に容量をマークしておくと、ゲルを加温して溶解する際に蒸発して容量が減少したか否かを判別することができます。容量が減っている場合、マークした位置まで泳動バッファーを加えてください。

3. アガロースはマグネットホットプレート（4a）か電子レンジ（4b）で沸騰させることによって溶解します。

4a. マグネットホットプレートを用いた方法

容器にスターラーバーを入れ、マグネットホットプレート上で混ぜながら沸騰するまで温めて溶解します。

4b. 電子レンジを用いた方法

容器を電子レンジ内に移します。この時、容器にフタはしないでください。（ ⚠ フタをすると蒸発した蒸気が容器内にたまって破裂する場合があります）弱レベルで加温します。レンジ内の様子を随時観察し、溶液が沸騰したらすぐに止めます。容器が熱いのでグローブ等を用いて取り出し、渦を巻くようにゆっくり混ぜます（ ⚠ 急激に混ぜると溶液が噴出すことがあるので注意して下さい）。アガロースが完全に溶解するまでこの操作を繰り返してください。

5. 完全にアガロースが溶解したのを確認（アガロースの粉粒が残っていないか）した後、溶液が約 60℃になるまで放置してください。

2-2. コームのセットアップ

コームとコームホルダーのセットアップ

モデル 96 と 192 で用いられるコームホルダーはあらゆるアガロースゲルのアプリケーションに対応できるようにデザインされています。このコームホルダーはコームの高さを調整が可能で、ベースステージや UVTP トレーのあらゆる位置にセットすることができます。次にコームとコームホルダーの操作方法について説明します。

コームの高さ調整とセッティングについて

1. コームホルダーにある 5 つのネジを緩めます。
2. コームホルダーの 5 つネジにコームのスロットを合わせます。ネジにスロットを滑り込ませ、かるくネジを締めてコームを少し固定します。
3. コームホルダーアッセンブリーをベースまたは UVTP トレー上に置き、ベースまたは UVTP トレーの表面から約 1 – 2mm くらい浮かすようにしてコームの高さを調整します。コーム全体がベースまたは UVTP トレーの表面と平行になっていることを確認してから

ネジを締め直してコームを完全に固定します。

2-3.　アガロースゲルの作製

サブセルモデル 96 とモデル 192 は 4 つのアガロースゲル作製方法があります。

A. ベースステージ上にゲルを作製する方法

B. ベース ステージ上で UVTP トレーを用いてゲルを作製する方法

C. ゲルキャスターと UVTP トレーを用いてゲルを作製する方法

D.　テープと UVTP トレーを用いてゲルを作製する方法

A. ベースステージ上にゲルを作製する方法

1. 付属の水平計を用いてサブセルのベースを水平にします。
2. ゲルキャスティングゲートをベースのスロットにスライドして両側にセットします。
3. 陰極（黒）に近い位置のスロットにコームをセットします。DNA サンプルは陽極側の方向へ泳動されます。
4. 50～60℃のアガロース溶液をセットしたゲートの間に注ぎます。
   ※ 60℃以上のアガロースを注ぎ入れるとトレーのプラスチックが変形してしまうので、注意してください。
5. 室温で 30～60 分間放置します。ゲルが完全に固まるまで放置してください。
6. ゲルが壊れないように注意しながら固まったゲルからコームとゲルキャスティングゲートを取り外します。
7. ゲルの表面が 4～6mm 沈むように泳動バッファーを加えてください。（ゲルと電気泳動関係試薬については 3 章を参照してください）

B. ベース ステージ上で UVTP トレーを用いてゲルを作製する方法

1. 付属の水平計を用いてサブセルのベースを水平にします。
2. ベース上に UVTP トレーをセットします。
   サブセルモデル 96 システムは、25×10m の UVTP トレーをセットします。
   サブセルモデル 192 システムは、25×15m の UVTP トレーをセットします。
3. ベースの両側にあるスロットにゲルキャスティングゲートをセットします。ゲルを流し込んだ時にゲルキャスティングゲートと UVTP トレーの間から漏れる場合がありますので、ゲルを流し入れる前にこの間にあらかじめ少量のゲルで固めて、漏れないようにすることをお奨めします。
4. 陰極（黒）に近い位置のスロットにコームをセットします。DNA サンプルは陽極（赤）の方向に泳動されます。
5. 50～60℃の溶解したアガロース溶液をセットしたゲートの間に注ぎます。
   ※ 60℃以上のアガロースを注ぎ入れると、UVTP トレーが変形してしまうので、注意して下さい。

A.の 5～7 と同じ操作を行ってください。

C. ゲルキャスターと UVTP トレーを用いてゲルを作製する方法

1. 付属の水平計をゲルキャスター又はミニゲルキャスター上に置いて水平にしてください。
2. ゲルキャスター又はミニゲルキャスターのカムを回し上げて、移動可能な壁部（Movable wall）が移動できるようにします。
3. ゲルキャスター又はミニゲルキャスターの固定された壁部（Fixed wall）側に UVTP トレーを押し付けるように置きます。
4. 移動可能な壁部（Movable wall）を UVTP トレーに移動させます。（図 2.1）
5. しっかりと固定するために、カムを下に押しながら回します。
6. カムがスロットに入ると、カムが固定されてゲルが漏れないようになります。
7. トレーのスロットにコームをセットします。

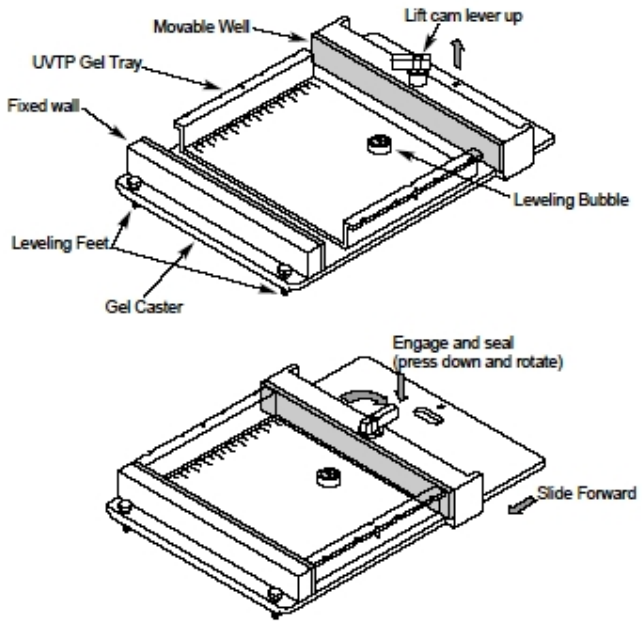


Figure 2.1 Sealing the UVTP tray for gel casting.

8. 60℃の溶解したアガロース溶液をセットしたトレーに注ぎます。

※ 60℃以上のアガロースを注ぎ入れると、トレーが変形してしまうので、注意して下さい。

9. 室温で 30～60 分間放置します。ゲルが完全に固まるまで放置してください。
10. ゲルが壊れないように注意しながら固まったゲルからコームを取り外します。

11. カムを下に押しながら回して移動可能な壁部（Movable wall）を移動します。ゲルキャスター又はミニゲルキャスターからUVTPトレーを取り外します。
12. コームを差していた側（DNA サンプルアプライ側）を陰極（黒）側にセットします。DNAサンプルは陽極（赤）の方向へ泳動されます。
13. ゲル表面が4〜6mm沈むように泳動バッファーを加えます。

D. テープとUVTPトレーを用いてゲルを作製する方法

1. UVTPトレーの両サイドをテープでシールします。
2. 付属の水平計を用いて水平になっていることを確認します。
3. UVTPトレーのスロットにコームをセットします。
4. 60℃の溶解したアガロース溶液をセットしたトレーに注ぎます。
   ※ 60℃以上のアガロースを注ぎ入れると、トレーのプラスチックが変形してしまうので、注意してください。
5. 室温で30〜60分間放置します。ゲルが完全に固まるまで放置してください。
6. ゲルが壊れないように注意しながら固まったゲルからコームを取り外します。
7. UVTPトレーの両サイドをシールしているテープを外します。
8. コームを差していた側（DNA サンプルアプライ側）を陰極（黒）側にセットします。DNAサンプルは陽極（赤）の方向へ泳動されます。
9. ゲル表面が4〜6mm沈むように泳動バッファーを加えます。

2-4. バッファー循環ポートについて

バッファーの循環は、通常サブセルシステムで電気泳動する時には必要ありません。長時間（2 時間以上）または高電圧（150-200 volts）の条件で泳動する場合、バッファーの循環を推奨します。バッファーの循環により、pHや熱の影響を受けないようにすることができます。バッファーの循環を行なう場合は、多検体サブセル用バッファー循環用キット（170-4537）が別途必要になります。このキットにはチューブに繋ぐアダプター類が含まれます。

1. 注意しながらフタのポートプラグを外します。
2. ポートにエルボシャープドフィッティングを回しながら入れます。
   注意：フタの下からネジ山が3つ以上出るようにしてください。

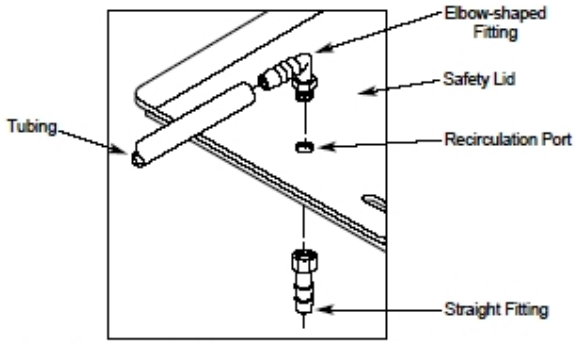


Figure 2.2. Connecting the recirculation ports and tubing.

3. エルボシャープドフィッティングとストライトフィッティングを繋ぎます。
4. エルボシャープドフィッティングにバッファー循環用ポンプに繋がったチューブを接続します。循環バッファーが漏れないようにフィッティングに繋いだチューブ部分を専用クリップで締めてください。
5. バッファーは 300-500ml／min の流速で循環してください。これ以上の流速にすると、ゲルがトレーなどから滑り外れてしまう場合があるので注意してください。電気泳動を始める前に、循環バッファーを循環してバッファーが漏れていないことを確認してください。

   ※ 循環しない場合は必ずエルボシャープドフィッティングとストライトフィッティングを外して、ポートプラグを付けてください。

2-5. 電気泳動

アガロースゲルが固まりましたら、サンプルローディングと電気泳動を行います。アガロースゲルはいくつかの泳動バッファーで泳動することができます。核酸のアガロースゲル電気泳動では通常 TBE(トリス-ホウ酸-EDTA) バッファー または TAE(トリス-酢酸-EDTA)バッファーが用いられます。TBE バッファーは TAE バッファーに比べて長時間または高電圧をかけても耐えたれるバッファー系です。

1. ベースにゲルトレーを置く時、コームを差していた側（DNA サンプルアプライ側）を陰極（黒）側にセットします。DNA サンプルは陽極（赤）の方向へ泳動されます。
2. 泳動バッファーを準備します。（泳動バッファーは、目的に合った種類、濃度希釈のものを用意してください）
3. ゲル表面が 4～6mm 沈むように泳動バッファーを加えます。
4. ゲルにアプライする為のサンプルを用意します。各コームの最大アプライ量は、6 章の表を参照してください。最大アプライ量は、ゲルの厚さと使用するコームの種類に依存します。
5. 最大アプライ量を確認したら、その量を超えないようにサンプル溶液を準備します。

サンプル溶液はサンプルローディングダイの最終濃度が 1×になるように混ぜて、調製します。

6. マイクロピペットまたはマルチチャンネルピペットを用いてゲルのウェル内にサンプルをアプライします。
7. 泳動槽に注意しながら蓋を取り付けます。泳動槽の赤と黒のバナナプラグに蓋の赤と黒のバナナジャックを接続することで正確に組み立てられます。
8. 電気条件は、ゲルの厚さ、長さ、濃度や使用するバッファータイプに依存されます。表 2.3 は、サブセル GT システムを用いた場合のサンプルの移動速度を表しています。表 2.4 は、サブセル GT システムを用いた場合のサンプルローディングダイによる DNA サイズの移動度を表しています。

注意：バッファーの取り替え・循環は通常の DNA または RNA アガロースゲル電気泳動では必要ありません。もしバッファー循環を行なう場合は、バッファー循環ポートを使用してください。（2 章を参照）

表 2.3 サンプルの移動速度

Cell Type	電圧	ブロモフェノールブルーの移動速度
サブセルモデル96	200V	5.15cm/hr
サブセルモデル96	200V	6.20cm/hr

*条件：0.5cm厚、1.0%アガロースゲル（Bio-Rad社製 Molecular Biology Certified Agarose）、1×TAEバッファー（Bio-Rad社製 50×TBEプレミックスバッファーを希釈）を用いた場合。

表2.4 サンプルローディングダイによるDNAサイズの移動度

アガロースの濃度（%）	キシレン シアノール	ブロモフェノールブルー
0.5 – 1.5	4 – 5 Kb	400 – 500 bp
2.0 – 3.0**	750 bp	100bp
4.0 – 5.0**	125 bp	25bp

**AmpliSizeアガロースを使用した場合。

9. 目的に合った電気条件で泳動を始めます。もし、バッファー循環を行なう場合は、泳動を始める15分前からあらかじめ循環を始めてください。

注意：バッファーの循環は短時間の泳動の場合は必要ありません。高電圧（200V）で泳動する場合は、熱やpHの影響を受けないようにバッファーを循環することを推奨します。バッファーは300-500ml／minの流速で循環します。これ以上の流速にすると、ゲルがトレーなどから滑り外れてしまう場合があるので注意してください。

10. 電源をオフにして電気泳動を終了します。もし、バッファーを循環している場合はポンプを止めず、フタのコネクト部からチューブを外さないでください。ポンプを動か

した状態でフタを持ち上げて、ポンプやチューブに残っているバッファーをベースのバッファーチャンバーに入れてください。ポンプやチューブに残っていたバッファーが無くなったら、ポンプの電源を切りチューブを外してください。

2-6. 核酸の染色と検出

電気泳動後、ゲルは染色するためにゲルトレーやベースから取り外すことができます。また、UVTPゲルトレーからゲルを取り外さずに染色することもできます。

1. 適量のエチジウムブロマイド染色液（0.5μg/ml）の中に15～30分間浸します。ゲル全体が浸るようにします。

警告：⚠ エチジウムブロマイドは、非常に危険な発ガン性物質なので取扱いに注意して下さい。必ず グローブ、安全メガネ、白衣等を着用してください。使用後の染色液や染色後のゲルは各施設に沿った方法で処理して廃棄して下さい。

2. 染色したゲルを染色液と同量のdH_2Oの中に移し、10～30分間浸して脱色します。
注意：脱色することによって蛍光検出の際にバックグランドを抑えることができますが、脱色しすぎるとバンドのシグナルも弱くなるので注意してください。
3. 2.の溶液を廃棄し、再度同量のdH_2Oを加えてリンスします。
4. 核酸の検出と解析を行なうためにUVトランスイルミネーターの上に、ゲルを置きます。
5. DNAに結合したエチジウムブロマイドは、254、302、360nmのUV光で励起されます。長波長側で励起した方が感度は落ちますが、DNAの切断はされにくくなります（302nm以上）。表 2.5は1/4インチ（0.64cm）厚のUVTP（UV透過プラスチック）をそれぞれのUV波長が透過するパーセンテージを表しています。

表2.5 1/4インチ厚のUVTPを透過するUVのパーセンテージ

波長（nm）	透過率（%）
254	0
302	80
360	90

6. 専用のポラロイドカメラ（Bio-Rad社製 Standard Polaroid Gel Documentation System など）やCCDカメラ装備のイメージ解析システム（Bio-Rad社製 Gel Doc system など）を用いてゲルの写真を撮ります。通常、ゲルはイエロー、オレンジ、またはレッドの干渉フィルターを用いて写真を撮ります。この中ではレッドの干渉フィルターが一番バックグランドを抑えることができます。

2-7. ブロッティングについて

ゲル内の核酸は、サザン･ノーザンブロッティングによってメンブレン上に転写することができます。バイオ･ラッド社では、サザン･ノーザンブロッティングで用いるメンブレン（ナイロン･ニトロセルロース）やバキューム式ブロッティング装置も取り扱っています。

3. ゲルと電気泳動試薬の準備

3-1. 泳動バッファーの調製

DNAアガロースゲル電気泳動は通常、TBE(トリス-ホウ酸-EDTA) バッファーまたはTAE(トリス-酢酸-EDTA)バッファーを用います。バイオ･ラッド社ではプレミックスの10×TBEバッファーと50×TAEバッファーをご用意しています。RNAホルムアミドゲルは、MOPS [3-(N-morpholino)-propanesulfonic acid]電気泳動バッファーを用います。

1×トリス-ホウ酸-EDTA（TBE）：『 89mM Tris(pH7.6) , 89mM ホウ酸 , 2mM EDTA 』
10×TBE 1Lを調製する場合、
Tris base（FW = 121）108gをビーカーに取り、dH_2O 600mlを加えて溶解します。ホウ酸（FW = 61.8） 55gと0.5M EDTA（pH 8.0） 40mlを加え、最終量が1Lになるように蒸留水を加えてください。

1×トリス-酢酸-EDTA（TAE）：『 40mM Tris(pH7.6) , 20mM 酢酸 , 1mM EDTA 』
50×TAE 1Lを調製する場合、
Tris base（FW = 121）242gをビーカーに取り、dH_2O 600mlを加えて溶解します。酢酸57.1mlと0.5M EDTA（pH 8.0） 100mlを加え、最終量が1Lになるように蒸留水を加えてください。

1×MOPSバッファー（RNA Gel）：『 0.02M MOPS[3-(N-morpholino)-propanesulfonic acid]（pH 7.0） , 8mM sodium acetate , 1mM EDTA（pH 8.0）』
5×MOPSバッファー1Lを調製する場合、
MOPS 20.6gをビーカーに取り、DEPC処理したdH_2O 600mlを加えて溶解します。3M sodium acetate（DEPC処理済）と0.5M EDTA（pH 8.0 , DEPC処理済） 10mlを加え、最終量が1LになるようにDEPC処理した蒸留水を加えてください。

警告: ⚠ DEPCは発ガン性物質と疑われているものです。必ずグローブ、安全メガネ、白衣等を着用してください。また、DEPCを含む溶液を取り扱う場合も注意して下さい。

3-2. DNAとRNAゲルの調製

DNAアガロースゲル
2章を参照してください。

RNAアガロースホルムアミドゲル
1%アガロースホルミアミドゲル100mlを調製する場合、
溶解した1.6%アガロース　　62ml
5×MOPS 電気泳動バッファー　　20ml (最終濃度 1×)
12.3M (37.5%) ホルムアミド　　18ml (最終濃度 2.2M)

警告: ⚠ ホルムアミド溶液と気化したホルムアミドは有毒です。ホルムアミド溶液やホルムアミド含ゲルを取り扱う際は、ドラフト等を用いて下さい。また、必ずグローブ、安全メガネ、白衣等を着用してください。

3-3. RNAサンプルの調製

アガロース ホルムアルデヒド ゲルにRNAをローディングするために次のようにRNAサンプルを調製します。
DEPC処理したdH_2Oで溶解したRNA　　3.0μl
5×MOPS バッファー (最終濃度1.67×)　　5.0μl
12.3M ホルムアルデヒド (最終濃度3.7M)　　4.5μl
ホルムアミド (最終濃度50% v/v) 12.5μl

警告: ⚠ ホルムアミドは有毒です。必ずグローブ、安全メガネ、白衣等を着用してください。

3-4. DNA･RNA用サンプルローディングダイの調製

10×サンプルローディングダイを調製する場合、
1×TAEバッファーに50%グリセロール、0.25%ブロモフェノールブルー、0.25%キシレンシアノールを含むように調製します。

3-5. ゲル染色溶液の調製 (エチジウムブロマイド溶液)

dH_2O 1mlに対し、EtBr 10mg加えます。Bio-Rad社のエチジウムブロマイド溶液はあらかじめ10mg/mlの濃度に調製済みです。エチジウムブロマイド溶液は暗室等で保管してください。

4. アフターケアについて

4-1. サブセルシステムの洗浄

1. 全てのサブセルGTシステムのパーツは中性洗剤で洗浄してください。もし、析出したバッファー塩や乾燥したアガロースを除去したい場合は、柔らかいブラシやスポンジを用いて除去してください。

   注意：洗浄の際は白金線などを切断しないように注意してください。

2. 全てのパーツをdH_2Oでリンスして、風乾してください。
3. 循環ポートとチューブを洗浄する場合は、ポンプを用いてdH_2Oを流してリンスしてください。その後、dH_2Oが残らないようにして乾燥してください。

4-2. 洗浄に用いる薬剤について

各部品を長持ちさせるためには中性洗剤で洗浄してください。プラスチックのパーツは中性洗剤溶液に30分間以上浸さないようにしてください。

注意：サブセルシステムのパーツは次のような化学薬品を用いて洗浄しないでください。これらの薬品を使用すると、プラスチックパーツが破損する原因になります。

・塩化炭酸水素系

4塩化炭素、クロロホルムなど

・芳香族炭化水素系

ベンゼン、フェノール、トルエン、メチルエチルケトン、アセトンなど

・アルコール系

メタノール、エタノール、イソプロピルアルコールなど

※ サブセルGTのパーツの洗浄には、研磨剤や高アルカリ洗剤を使用しないで下さい。

※ サブセルGTのパーツは60℃以上の耐久はありません。サブセルGTのパーツはオートクレーブや乾熱処理はしないでください。

4-3. 電極の交換

サブセルGTシステムはバナナプラグ/電極ワイヤーアッセンブリー（the banana plug / electrode wire assembly）を取り替えることによって壊れた電極ワイヤーを簡単に取り替えることができます。

1. バナナプラグ/電極ワイヤーアッセンブリー（the banana plug / electrode wire assembly）を新しくするためにベースの横壁からサムスクリューを外します。このサムスクリューは廃棄しないでください（これらは再度使用します）。
2. 壊れたワイヤーアッセンブリーを取り外します。壊れたアッセンブリーは廃棄してください。
3. ベース下の電極ワイヤーガイドスロットに新しい電極アッセンブリーをセットします。

4. ベースにアッセンブリーを固定するためにサムスクリューと取り付けてしっかり締めます。

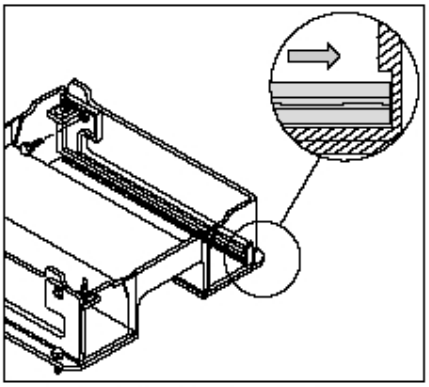


Figure 4.1 Replacement of banana plug/electrode wire assembly.

4-4. RNase処理

サブセルシステムでRNAゲルを使用するためにはRNase除去の処理が必要になります。処理の方法は、まずパーツを中性洗剤で洗浄後、10分間 3%過酸化水素水（H_2O_2）に浸し 0.1%DEPC 処理したdH_2Oでリンスします。

警告：⚠ DEPCは発ガン性物質と疑われているものです。必ずグローブ、安全メガネ、白衣等を着用してください。また、DEPCを含む溶液を取り扱う場合も注意して下さい。
サブセルシステムのパーツは、乾熱滅菌によるRNase除去はしないでください。

注意：市販されているRNase除去用の製品を使用することもできます。使用の際は、その製品の取扱説明書に記された方法で処理してください。

5. トラブルシューティング

問題	原因	対策
レーン（バンド）が斜めになる	a. .ゲルが十分に固まっていない。 b. コームが曲がってセットされている	a. 少なくとも30～45分間、ゲルを固める。 b. コームが正しくセットされているか確認する。
レーン（バンド）の歪みやラインの曲がり	サンプルウェル中に泡がある。	サンプルウェル中の泡を除去する。
各レーンのバンドの移動度が異なる	a. ウェルからサンプルがあふれている。 b. ユニットが水平に保たれていない。	a. 正しいサンプル量をアプライしてください。 b. ユニットを水平にしてください。
バンドの歪みやスマイリング	a. 設定した電圧値が高すぎる。 b. 電流値が高すぎる。	a. 電圧の設定値を下げる。 b. 正しいバッファーの組成や濃度になっているか確認する。
形の悪いバンドになる	a. サンプルの濃度が適切でない。 b. ウェルの形状が変形している。 c. 熱の発生や電圧が高すぎる	a. サンプルのアプリケーションに合った濃度にしてください。 b. 注意して、ゲルからコームを外します。ゲルが十分に固まっていること確認してください。ゲルを冷やしておくとコームが外しやすくなります。 c. 電圧を下げる。
バンドの汚れや縦スジが入る	a. 適切なアガロースを使用していない b. サンプル中に過剰な塩類が含まれている。 c. 熱の発生や電圧が高すぎる d. ウェルからサンプルがこぼれている e. 処理が不完全、ヌクレアーゼのコンタミネーション、不良の酵素 f. サンプルウェルの一部が深すぎて、ゲルを突き抜けて、サンプルが漏れている。 g. サンプル量が多すぎる	a. サンプルに適切なアガロースであるか確認してください。 b. 塩濃度を0.1M以下にしてください。 c. 電圧を下げる。 d. 注意してサンプルをアプライして下さい。サンプル量が多い場合は、ゲルを厚くしてコームの深さを調製してください。 e. サンプルを熱処理する。酵素活性を確認してください。十分にサンプルを処理してください。 f. コームを下から1～2mmほど浮かした状態でゲルを作製してください。 g. サンプル量を減らしてください。
1つのバンドとして検出されるものが、いくつかのバンドとして検出される。	a. ゲル濃度が高すぎる。 b. サンプル処理が不完全	a. ゲル濃度を下げる。 b. 酵素活性を確認して下さい。十分にサンプルを処理してください。
高分子量のバンドはシャープだが、低分子量のバンドはスメアーになる	ゲルのパーセンテージが低すぎる。	ゲルのパーセンテージを増やすか、ポリアクリルアミドゲルに変更してください。
ゲルが割れる	電圧が高すぎる。ローメルトアガロースを使用している。	電圧を下げる。低い温度で泳動してください。

6. プロダクトインフォメーション

6.1 サブセルモデル96、モデル192システム

カタログ番号	製品名
サブセルモデル96システム	
170-4500JA	サブセル96システム　25×10cmトレー、ゲルキャスター付 96ベース、ケーブル付リッド、GTキャスティングゲート×2、 サブセル96/192UVTPトレー 25×10cm、水平バブル、96ゲルキャスター、コーム 2本（51ウェル1.5mm及び26ウェル1.5mm）、サブセル96/192コームホルダー、 インストラクションマニュアル
170-4501JA	サブセル96システム　25×15cmトレー、ゲルキャスター付
170-4502	サブセル96システム　25×10cmトレー付
170-4503	サブセル96システム　25×15cmトレー付
サブセルモデル192システム	
170-4504JA	サブセル192システム　25×10cmトレー、ゲルキャスター付 192ベース、ケーブル付リッド、GTキャスティングゲート×2、 サブセル96/192UVTPトレー 25×10cm、水平バブル、192ゲルキャスター、コーム 2本（51ウェル1.5mm及び26ウェル1.5mm）、サブセル96/192コームホルダー、 インストラクションマニュアル
170-4505JA	サブセル192システム　25×15cmトレー、ゲルキャスター付
170-4506JA	サブセル192システム　25×20cmトレー、ゲルキャスター付
170-4507JA	サブセル192システム　25×25cmトレー、ゲルキャスター付
170-4508	サブセル192システム　25×10cmトレー付
170-4509	サブセル192システム　25×15cmトレー付
170-4510	サブセル192システム　25×20cmトレー付
170-4511	サブセル192システム　25×25cmトレー付
多検体サブマリン電気泳動システム	
170-4501SJ1	サブセル96検体システム 96ベース、ケーブル付リッド、GTキャスティングゲート×2、 サブセル96/192UVTPトレー 25×10cm、水平バブル、96ゲルキャスター コーム 3本（51ウェル1.5mm×2 及び 26ウェル1.5mm×1） サブセル96/192コームホルダー×2、インストラクションマニュアル

170-4507SJ1	サブセル192システム　25×10cmトレー、ゲルキャスター付 192ベース、ケーブル付リッド、GTキャスティングゲート×2、 サブセル96/192UVTPトレー 25×10cm、水平バブル、192ゲルキャスター コーム 3本 (51ウェル1.5mm×2 及び 26ウェル1.5mm×1) サブセル96/192コームホルダー×2、インストラクションマニュアル

サブセルモデル96付属品

カタログ番号	製品名
170-4514	サブセル96ゲルキャスター
170-4518	サブセル96/192交換用電極　陽極 (赤)
170-4519	サブセル96/192交換用電極　陰極 (黒)
170-4520	サブセル96/192キャスティングゲート (2)
170-4521	サブセル96/192UVTPトレー 25×10cm
170-4522	サブセル96/192UVTPトレー 25×15cm
170-4537	多検体サブセル用バッファー循環用キット

サブセルモデル192付属品

カタログ番号	製品名
170-4517	サブセル192ゲルキャスター
170-4518	サブセル96/192交換用電極　陽極 (赤)
170-4519	サブセル96/192交換用電極　陰極 (黒)
170-4520	サブセル96/192キャスティングゲート (2)
170-4521	サブセル96/192UVTPトレー 25×10cm
170-4522	サブセル96/192UVTPトレー 25×15cm
170-4523	サブセル192UVTPトレー 25×20cm
170-4524	サブセル192UVTPトレー 25×25cm
170-4537	多検体サブセル用バッファー循環用キット

サブセルモデル96 & 192用コーム

カタログ番号	製品名
170-4525	サブセル96/192コームホルダー
170-4526	サブセル96/192コーム 26well 0.75mm
170-4527	サブセル96/192コーム 26well 1.5mm
170-4528	サブセル96/192コーム 51well 0.75mm
170-4529	サブセル96/192コーム 51well 1.5mm
170-4530	サブセル96/192プレップコーム 2well + 4well 0.75mm

170-4531　　サブセル96/192プレップコーム 2well + 4well 1.5mm

パワーパックBasicBasicとのシステム

カタログ番号	製品名
164-5050K	サブセル96 PP Basicシステム (25×10cm)
164-5050L	サブセル96 PP Basicシステム (25×15cm)
164-5050M	サブセル192 PP Basicシステム (25×10cm)
164-5050N	サブセル192 PP Basicシステム (25×15cm)
164-5050P	サブセル192 PP Basicシステム (25×20cm)
164-5050Q	サブセル192 PP Basicシステム (25×25cm)

日本バイオ・ラッド　ラボラトリーズ株式会社

ライフサイエンス事業本部	本社	〒116-0014 東京都荒川区東日暮里 5-7-18	TEL. (03) 5811-6270	FAX. (03) 5811-6272
	つくば営業所	〒305-0031 つくば市吾妻 1-15-1	TEL. (029) 852-0835	FAX. (029) 852-0829
	神奈川営業所	〒222-0033 横浜市港北区横浜 2-7-3	TEL. (045) 476-0351	FAX. (045) 467-0350
	名古屋営業所	〒465-0093 名古屋市名東区一社 3-121-1	TEL. (052) 702-2358	FAX. (052) 702-2812
	大阪営業所	〒532-0025 大阪市淀川区新北野 1-14-11	TEL. (06) 6308-6568	FAX. (06) 6308-3064
	福岡営業所	〒812-0013 福岡市博多区博多駅東 2-18-30	TEL. (092) 475-4856	FAX. (092) 475-4858

※ 技術的お問い合わせは　TEL. (03) 5811-6271　FAX. (03) 5811-6272

http://discover.bio-rad.co.jp/

M5237-0404A